

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Marburg
(Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer)

**Untersuchungen
zur Darstellung und Identität
des Posttransferrin-Polymorphismus**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg**

**vorgelegt von
Heiko Schneitler
aus Essen**

Marburg 1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553805_0092

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Marburg
(Direktor: Prof. Dr. F. Schleyer)

**Untersuchungen
zur Darstellung und Identität
des Posttransferrin-Polymorphismus**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg**

**vorgelegt von
Heiko Schneitler
aus Essen**

Marburg 1973



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 27.3.73

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. F. Schleyer

Korreferent: Prof. W. Wesemann

I N H A L T

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	7
1. Die Entdeckung des C'3-Polymorphismus	7
2. C'3 als Komplementfaktor	9
B. <u>Methodik der Pt-Typenbestimmung</u>	12
1. Originalmethode	12
a) Die Kammer	12
b) Das Stärkegel	13
c) Der Puffer	13
d) Vorbehandlung der Proben	14
e) Die Elektrophoresebedingungen	14
f) Das Färben	15
g) Die Ablesung	15
2. Modifizierte Methode	16
a) Ableitung der Wärme	16
b) Erhöhung der Stromstärke	18
c) Veränderungen der Stärkekonzentration	19
d) Weitere Veränderungen	19
3. Optimierung der Methode	20
a) Schichtdicke des Gels	20
b) Temperierung des Gels	21
c) Vorbehandlung der Seren	21
d) Veränderung der verimpften Serummengde	25
e) Die endgültigen Laufbedingungen	25
f) Andere bekannte Laufbedingungen für Pt	26

C. <u>Ergebnisse von C'3- und Pt-Bestimmungen an</u>	
<u>identischen Seren</u>	28
1. Material und Technik	28
2. Befunde	29
3. Diskussion der Fehlerquellen	30
D. <u>Prüfung unbekannter seltener C'3-Typen auf ihr</u>	
<u>Pt-Merkmal</u>	35
E. <u>Untersuchung der Darstellbarkeit des Merkmales Pt</u>	
<u>an Postversandbluten</u>	37
1. Material und Technik	37
2. Befunde	38
F. <u>Bestimmung der Genfrequenzen für das Merkmal Pt</u>	
im Raume Marburg	39
G. <u>Abschließende Betrachtung über das Merkmal Pt</u> . . .	43
H. <u>Anhang</u>	46
Die Konstruktion der Trennkammer	46
I. <u>Zusammenfassung</u>	50
K. <u>Literatur</u>	51

Meiner lieben Frau Brigitte
gewidmet

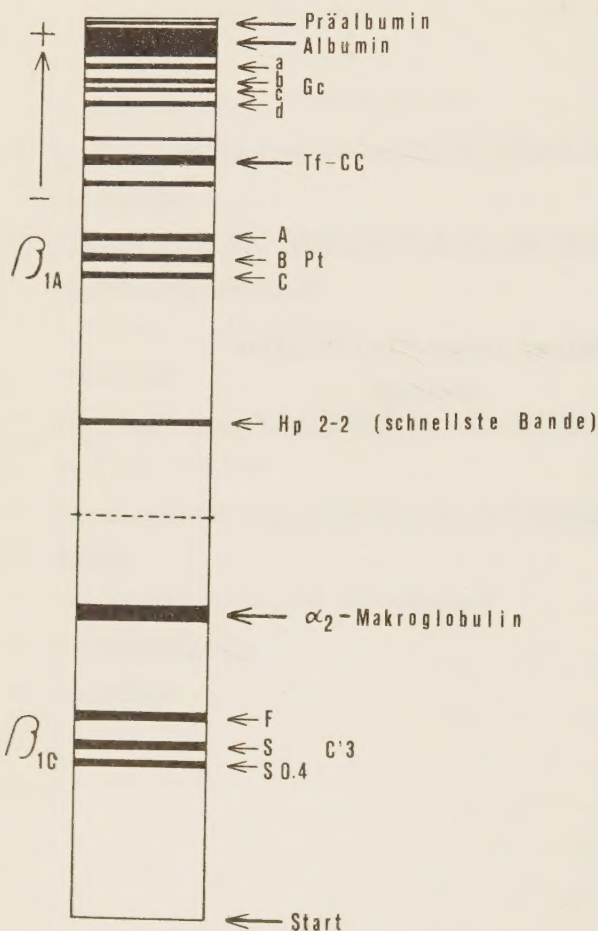


Abb. 1.: Schema einer Stärkegel-Elektrophorese mit dem Posttransferrin-Polymorphismus im β_{1A} -Bereich, kombiniert mit den Befunden einer Hochspannungs-Elektrophorese des C'3-Systems im β_{1C} -Bereich (unterhalb der gestrichelten Linie).

A. Einleitung

1. Die Entdeckung des C'3 Polymorphismus

Dem Blutgruppenuntersucher im forensischen Laboratorium standen bis zur Mitte der sechziger Jahre, ihres geeigneten Polymorphismus wegen, 5 Serumgruppen zur Verfügung: Hp, Gc, Gm, Inv und Tf. ROPARTZ entdeckte 1965 einen zusätzlichen Polymorphismus des Komplementfaktors C'3, den er mit dem Hämagglutinations-Hemmtest darstellte. 1967 und 1968 berichtete WIEME über einen mit der Hochspannungselektrophorese nachweisbaren Polymorphismus von C'3, der jedoch andere Allelfrequenzen aufwies als der durch ROPARTZ beschriebene.

ALPER und PROPP konnten noch im selben Jahr die Befunde von WIEME bestätigen. ALPER und PROPP berichteten 1968 über die gesicherte Vererbbarkeit des C'3-Polymorphismus und dessen Konstanz. Sie stellten außerdem 10 weitere Varianten von C'3 dar. Alle bis dahin gefundenen Allele waren antigen-identisch, wiesen funktionell keine Besonderheiten auf und hatten im Serum die gleiche Konzentration. ALPER und PROPP postulierten ein autosomales kodominantes Mehr-Allelen-System. Die beiden häufigsten Allele F und S ("fast" und "slow") wurden von ALPER und PROPP als Bezugslinien vorgeschlagen (siehe Abb. 1). Die anderen Allele wurden ihrer Schnelligkeit nach - langsamer oder schneller als F oder S - entsprechend benannt, z.B. F 0.5 und S 0.9.

AZEN und SMITHIES wiesen 1968 mit der Stärkegel-Elektrophorese einen Polymorphismus nach, der sich in 2 Bereichen gleich-

zeitig darstellte. Die Autoren nannten den im Post- α_2 -Bereich liegenden den "A-Bereich", der andere lag im Posttransferrin-Bereich und wurde entsprechend der "B-Bereich". Bei Alterung der Seren wurden die Banden im A-Bereich schwächer, im B-Bereich hingegen stärker. AZEN und SMITHIES vermuteten, im Post- α_2 -Bereich den von WIEME beschriebenen C'3-Polymorphismus dargestellt zu haben, im Posttransferrin-Bereich hingegen ein Abbauprodukt des C'3, das β_{1A} -Globulin, was später durch Vergleichsuntersuchungen bestätigt wurde. Das seltenere Allel wurde 1 und das häufigere 2 genannt, in der Nomenklatur von ALPER und PROPP entspricht F = 1 und S = 2. TEISBERG beschrieb 1970 und 1971 4 weitere Varianten des C'3-Polymorphismus.

ROSE und GESERICK (1969) bemerkten bei der Stärkegel-Elektrophorese der Transferrine Positionsdifferenzen einer Fraktion im α_2 -Bereich. Auf Grund weiterer Untersuchungen vermuteten sie, daß es sich um ein autosomales kodominantes Drei-Allelen-System handeln müsse. Wegen der Lokalisation im Posttransferrin-Bereich nannten sie es "Posttransferrin" (Pt). Untersuchungen größerer Populationen führten 1971 zur Auffindung weiterer Allele, die eine Erweiterung des genetischen Modells erlaubten. GESERICK (1969) bewies die Unabhängigkeit des Pt-Systems vom Haptoglobin. Die Untersuchungen von GESERICK, ROSE und SCHNITZLER (1970c) zur Identität des Posttransferrins bewiesen dessen Unabhängigkeit von den anderen bekannten Serumgruppen und die Identität mit β_{1A} -Globulin. GESERICK et al. (1970 a,b und 1971a) und ROSE und GESERICK (1971) beschrieben die Brauchbarkeit des Posttransferrin-Polymorphismus für gene-

tisch-forensische Zwecke. PROKOP veröffentlichte schon 1970 die ersten Ausschlüsse in Paternitätsgutachten mit Hilfe von Pt. Das Posttransferrin erwies sich als ungeeignet für Blutspurenuntersuchungen (GESERICK und ROSE 1971b).

GESERICK und ROSE vermuteten, daß der von ihnen entdeckte Polymorphismus identisch sei mit dem von WIEME, ALPER und PROPP und AZEN und SMITHIES angegebenen C'3-Polymorphismus. Zur Klärung dieser Frage sollte die vorliegende Arbeit beitragen.

Identische Seren wurden sowohl nach der von ALPER und Mitarbeiter angewandten Methode, modifiziert nach TEISBERG (1970a) als auch nach der Methode von ROSE und GESERICK (1970) untersucht. Die Technik der Untersuchung des C'3-Polymorphismus ist bei HANDSTEIN angegeben, die des Merkmals Pt in dieser Arbeit.

2. C'3 als Komplementfaktor

Das "Komplement" ist ein von EHRLICH und von BORDET geprägter Begriff für eine an der Immunhämolyse beteiligte Serumkomponente. Zu erster serologischer Bedeutung kam das Komplement in der Komplement-Bindungsreaktion nach WASSERMANN 1906. In den folgenden Jahren erwies sich das Komplement als ein Sammelbegriff für eine Gruppe von Serumproteinen, die an Antigen-Antikörperreaktionen beteiligt sind. Bis heute konnten 9 Komponenten des Komplements C'1 bis C'9 nachgewiesen werden. Die 3. Komponente des Systems erwies sich als besonders wichtig und wurde deshalb von BITTER-SUERMAN die "Drehscheibe des Komplements" genannt. Ihr Fehlen ist mit dem Leben nicht vereinbar. Im Feten ist C'3 ab dem 29. Schwangerschaftstag nachweisbar

(ANANTHAKRISHNAN). Da dieser Faktor nicht plazentagängig ist (PROPP und ALPER), darf eine Synthese im Feten vermutet werden. Der Ort der Synthese des C'3 ist die Leber (ALPER et al. 1969a). Bereits 3-6 Monate nach der Geburt erreicht die Konzentration des C'3 im Blut des Säuglings die Werte des Erwachsenen (ANANTHAKRISHNAN). Die Konzentration im Serum eines Erwachsenen liegt normal zwischen 97-204 mg/100 ml (ALPER und ROSEN 1971). C'3 ist thermolabil und erst bei einer Temperatur unter -70°C stabil (LAURELL). Beim Zerfall des $\beta_{1\text{C}}$ können elektrophoretisch mehrere Spaltprodukte nachgewiesen werden, und zwar in den Bereichen: α_1 , α_2 , β_1 , inter- β und γ_1 (LUNDH).

Durch MÜLLER-EBERHARD und NILSSON wurde 1960 die biochemische Natur des C'3 weitgehend aufgeklärt. Es handelt sich um ein mit $\beta_{1\text{C}}$ -Globulin identisches Glykoprotein. WEST und Mitarbeiter beschrieben 1966 die Antigendetermination des C'3. Es handelt sich um ein aus 3 Teilstücken zusammengesetztes Protein mit 3 antigenetisch wirksamen Determinanten: A, B und D. Das hauptsächliche Konversionsprodukt des $\beta_{1\text{C}}$ (das $\beta_{1\text{A}}$) ist Träger der antigenetischen Eigenschaft A. Das Spaltprodukt $\alpha_2\text{D}$ weist die Determinante D auf; es besteht keine Antigengemeinschaft zu A. Das $\alpha_2\text{D}$ besitzt noch eine weitere Determinante D_d , die im $\beta_{1\text{C}}$ nicht nachweisbar ist. Die Determinante B ist in keinem Spaltprodukt des $\beta_{1\text{C}}$ nachweisbar. Das $\beta_{1\text{G}}$ -Globulin ist Träger der Determinanten A, D und D_d .

Die Aktivierung des C'3 in der Reaktionskette des Komplementsystems geschieht normalerweise durch die Reaktion mit einem sensibilisierten Erythrozyten (EA), der mit den Komplementfaktoren 1, 4b und 2a beladen ist (EAC 1,4b,2a). Unter

Abspaltung von C 3a bildet sich der Komplex EAC 1,4b,2a,3b; der unter weiterer Abspaltung von C 3c und Bildung von C 3d mit dem Faktor 5 weiterreagiert. Das Spaltprodukt C 3c entspricht dem durch ROSE und GESERICK entdeckten Posttransferrin (BITTER-SUERMANN). Diese Art der Aktivierung von C'3 ist nicht die einzig mögliche, es existieren Bypass-Mechanismen (BITTER-SUERMANN). So kann C'3 durch Stoffe wie Kobratoxin, Hydrazin, Zymosan, Dextran, Endotoxine gramnegativer Bakterien und Immunpräzipitat aktiviert werden (BITTER-SUERMANN, HUMMEL und MITTELSTÄDT, LAURELL und LUNDH, MÜLLER-EBERHARD und NILSSON). Durch die Erkenntnis, daß das Spektrum der Reaktionen, die C'3 aktivieren können, größer ist als früher angenommen, kann gefolgert werden, daß die immunpathologische Rolle des Komplementsystems ebenfalls größer ist, als früher vermutet wurde.

B. Methodik der Pt-Typenbestimmung

1. Originalmethode

ROSE und GESERICK (1970) verwandten die horizontale Stärkengel-Elektrophorese nach SMITHIES. Durch Verwendung eines geeigneten diskontinuierlichen Puffers wurde eine besonders gute Auftrennung im α_2 - β -Bereich erreicht. Die Pt-Banden stellten sich zwischen den Transferrinen und den Haptoglobinen dar.

Zu den einzelnen Schritten:

a) Die Kammer

Die Pufferküvetten sind sehr groß gewählt und fassen etwa 1 Liter. Es werden keine Doppelküvetten verwandt; durch die große Puffermenge wird die Ionenverarmung während der Elektrophorese vermieden. Die Trennkammer ist aus PVC und hat die Abmessung 280 x 180 x 10 mm. (In der Originalarbeit durch Druckfehler falsche Maßangaben!) Zur Ableitung der Joule'schen Wärme wird die Kammer durch einen darüber gehängten Ventilator luftgekühlt. Die Kathode ist aus Edelstahldraht 0.6 mm, die Anode aus Platindraht 0.6 mm $\varnothing$. Die Länge der Elektroden ist in der Veröffentlichung nicht angegeben. Bei der Nacharbeitung der Methode erwies sich eine etwa 20 cm lange Elektrode als geeignet.

b) Das Stärkegel

In der Originalarbeit wird leicht überhydrolysierte Stärke 13% verwandt, die auf herkömmliche Weise gekocht und gegossen wird. Die Kammer sollte vor dem Gießen genau in der Horizontalen austariert werden, um Dickenschwankungen des Gells und damit einen diskontinuierlichen Spannungsabfall während der Elektrophorese zu vermeiden.

c) Der Puffer

Als Puffer wird ein diskontinuierlicher Puffer nach POWLIK verwandt. Von EBERTUS modifiziert, hat der Puffer die Zusammensetzung:

Gelpuffer:	Trishydroxymethylaminomethan	1.75 g
ph 7.3	Zitronensäure	0.85 g
	Aqua destillata	ad 1000 ml
Elektrodenpuffer:	Borsäure	11.80 g
ph 7.7	Lithiumhydroxyd	0.75 g
	Aqua dest.	ad 1000 ml

Der Anodenpuffer wird zur Verminderung der Joule'schen Wärme 1:1 mit Aqua dest. verdünnt. Den Puffern werden nach einer Empfehlung von AZEN, SMITHIES und HILLER Mg^{++} -Ionen zugesetzt, um eine schärfere Bandenbildung zu erzielen. Die Konzentration der Mg^{++} -Ionen soll im Puffer 0.002 mol sein.

d) Vorbehandlung der Proben

Die zu untersuchenden Seren werden 4-7 Tage im Kühlschrank bei etwa 4°C aufbewahrt. Erst dann ist eine eindeutige Differenzierung möglich. Den Proben wird vor dem Verimpfen ein Tropfen Hb-Lösung nach PROKOP und UHLENBRUCK zugegeben, da Hp 2-1 und 2-2 die Pt-Banden sonst störend überlagern würden. Der Hp/Hb-Komplex wandert dagegen langsamer (GIBLETT) als die Haptoglobine ohne Hb. Den Seren vom Hp-Typ 1-1 wird keine Hb-Lösung zugegeben, da sie erst nach Zugabe von Hb-Lösung und Bildung des Hp/Hb-Komplexes die Pt-Banden überlagern würden.

Die Proben sind im Kühlschrank etwa 4-6 Wochen haltbar, im tiefgefrorenen Zustand Monate bis Jahre (ROSE und eigene Beobachtung).

Die Seren werden in etwa 2 cm vom kathodalen Gelrand gelegenen Impfschlitzen mit Impfpapier vom Typ FN eingebracht.

e) Die Elektrophorese-Bedingungen

Die Elektrophorese läuft in etwa 5-6 Stunden 17 cm bei 400 V und 100 mA (am Gerät gemessen). Während des Laufes wird die im Gel entstehende Wärme mittels Luftkühlung abgeleitet. In einer persönlichen Mitteilung gab ROSE die Auskunft, erst nach Passieren der Impfschlitze durch die High-Voltage-Gradient-Line, d.h. eine halbe Stunde nach Beginn der Elektrophorese, schalte er auf die volle Spannung von 400 V; vorher sei es besser, nur etwa 300 V anzulegen, sonst könnten die Brücken zwischen den Impfschlitzen während des Passierens der HVG-Line reißen.

f) Das Färben

Das Gel wird mit einem Edeltahldraht auseinandergeschnitten und eine Hälfte mit Amidoschwarz 10 B gefärbt, dann auf übliche Weise entfärbt. Auf dem Pherogramm stellen sich die Posttransferrine zwischen den Transferrinen und den Haptoglobinen dar.

g) Die Ablesung

Die Pt-B-Bande ist wegen ihrer Häufigkeit als Bezugslinie geeignet; etwa 94.7% aller Seren haben eine B-Bande: 57.3% Pt-B, 30.7% Pt-AB und 6.7% Pt-BC (ROSE 1971). Als Kontrolle wird deshalb ein Pt-B Serum mitverimpft. Die Pt-A-Bande liegt anodal von der B-Bande, die Pt-B-Bande anodal von der Pt-C-Bande. Die Banden, die bei Heterozygoten vorkommen, können auch bei Homozygoten auftreten, dann allerdings weniger intensiv. Sie werden als "Minorfraktionen" bezeichnet; neben diesen Fraktionen sind noch 2 weitere Minorfraktionen möglich: Prä-A und Post-C (s. Abb. 2). Bis 1971 konnte dieses System außer an Seren der Berliner Bevölkerung auch bei Populationsuntersuchungen in Polen, Bulgarien und Grusinien (UdSSR) untersucht werden. Dabei wurden 7 weitere Allele entdeckt; 4 Pt-A-Varianten: A_0 kathodal von A, A_1 , A_2 und A_3 anodal. Von C wurden 3 Varianten entdeckt: alle liegen kathodal von C und wurden von ROSE (1971) C_1 , C_2 und C_3 genannt.

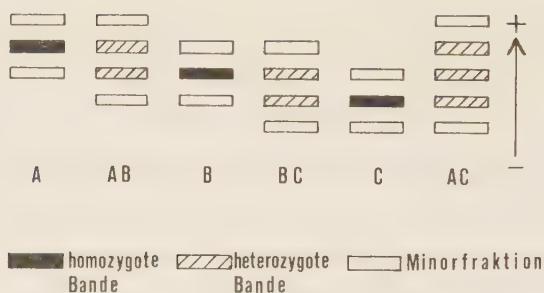


Abb. 2. Schematische Darstellung der Pt-Phänotypen (aus ROSE und GESERICK 1969)

2. Modifizierte Methode

Bei der Nacharbeitung der Originalmethode bereiteten Schwierigkeiten: die Ableitung der entstehenden Wärme und die niedrigen Ampèrewerte. Trotz gleicher Spannung betrug die Stromstärke nur ein Drittel des von ROSE genannten Wertes. Weiterhin war die von den Autoren angegebene Stärke nicht erhältlich und wurde deshalb durch Stärke der Firma Connaught (Toronto) ersetzt. Die angegebene Stärkekonzentration mußte deshalb verändert werden.

a) Ableitung der Wärme

Trotz der Verwendung eines Ventilators wurde die entstehende Wärme so stark, daß es zu Rissen des Geles an der Kathode kam. Auch Versuche, mit veränderter Spannung zu arbeiten, waren nicht erfolgreich, bei geringerer Temperaturentwicklung

wurde die Qualität der Auftrennung zu schlecht. Eine ausreichende Senkung der Geltemperatur war auch durch eine Unterbringung der Kammer während der Elektrophorese in einem Kühlschrank nicht zu erreichen, da dort keine ausreichende Luftströmung herrschte. Deshalb wurde ein Gelträger konstruiert, der mittels Wasserdurchlaufs unter dem Boden der Trennkammer geeignet war, die Geltemperatur in einzelnen Abschnitten ausreichend zu senken, ohne das gesamte Gel zu unterkühlen. Auch konnte durch Einstellung der Durchlaufflüssigkeit auf eine bestimmte Temperatur das Gel temperiert werden. Die gleichmäßige Unterströmung des Gels wurde durch eine Anzahl von Wirbelplatten erzielt, die gleichzeitig die Kammerdecke stützten. Als Zwischenschicht zwischen Kühlflüssigkeit und Gel erwies sich Glas als am besten geeignet. Die Kammer wurde aus 4 mm starkem Plexidur gebaut, mit dem Innenmaß 230 x 180 x 12 mm. Das Glas wurde mit der Kammer mit Hilfe eines dauerplastischen Klebstoffes auf Silikonbasis verbunden. Die Pufferkuvetten wurden ebenfalls aus Plexidur hergestellt. Die näheren technischen Einzelheiten der Konstruktion für einen Nachbau sind im Anhang erläutert.

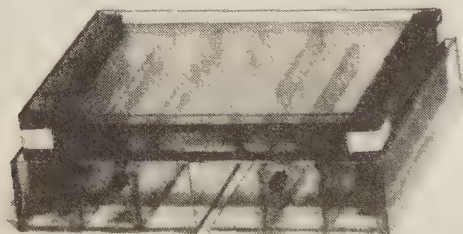


Abb. 3. Die eigene Trennkammer

b) Erhöhung der Stromstärke

Versuche, durch Veränderung der Spannung die Stromstärke zu erhöhen, erwiesen sich durch die Verschlechterung der Auftrennung als nicht erfolgreich. Um höhere Ampèrewerte zu erreichen, mußte deshalb der Widerstand gesenkt werden. Da der Widerstand des Brückenmaterials den Gesamtwiderstand stark beeinflusst, wurden verschiedene Materialien erprobt. Der Widerstand eines 2 cm breiten und 10 cm langen Streifens des Materials wurde gemessen. Der Querschnitt war jeweils dem Material entsprechend, der Viskoseschwamm wurde 10 mm dick geschnitten. Die Materialien wurden nach Tränken im Puffer auf ihren Widerstand geprüft. Die unterschiedlichen Widerstände einiger gebräuchlicher Brückenmaterialien sind in Tab. I. wiedergegeben. Viskoseschwamm in einer Stärke von 1 cm erwies sich als geeignetes Material. Durch seine Verwendung wurde eine Stromstärke von 120 mA bei 400 V ermöglicht. Durch eine spätere Mitteilung von ROSE war zu erfahren, daß auch er Viskoseschwämme als Brückenmaterial verwendet.

<u>Filterpapier</u>	<u>Widerstand</u>
BM GL 20/43	800 k Ω
SS 20/43 B	600 k Ω
SS 202	600 k Ω
Whatman 3 MM	500 k Ω
SS 30/20	130 k Ω
Viskoseschwamm	30 k Ω

Tab. I. Widerstand gebräuchlicher Brückenmaterialien, bestehend aus je 2 cm breiten Streifen von 10 cm Länge

c) Veränderungen der Stärkekonzentration

Die Konzentration wurde in steigenden Schritten von je 0.5% von 7% auf 13% erhöht. Bei einer Konzentration von 10% war die Auftrennung am besten. In Schritten von 0.2% wurde die Konzentration dann von 9.5% auf 10.5% erhöht. Bei einem Gehalt von 9.7% wurden die schärfsten Banden erzielt.

d) Weitere Veränderungen

Nach dem Kochen wird das Gel durch Erzeugen eines Unterdruckes entgast und nach dem Guß mit Glasplatten abgedeckt. So werden unkontrollierbare Störungen des Stromflusses während der Elektrophorese und Flüssigkeitsverluste vermieden, die zu Konzentrationsänderungen des Gels führen würden. Man läßt das Gel nur bis 37°C abkühlen und beimpft es dann schon etwa eine halbe Stunde nach dem Gießen. Um ein Austrocknen während des Laufes zu verhindern, wird das Gel mit einer Plastikfolie abgedeckt. Trocknete das Gel vor dem Lauf nur etwas aus, so waren deutlich schlechtere Pt-Darstellungen die Folge.

3. Optimierung der Methode

a) Schichtdicke des Gels

Die von ROSE angegebene Schichtdicke des Gels war aus mehreren Gründen ungeeignet dick: sie erschwerte u.a. die Ableitung der beim Lauf entstehenden Wärme; der elektrische Fluß war niedriger als bei einem Gel geringeren Querschnittes, und das Schneiden des Gels war sehr umständlich und vom Ergebnis her nicht günstig, denn es wurde die immer rauhe Schnittfläche gefärbt.

Nach einer persönlichen Mitteilung von ROSE wurde aus den genannten Gründen die Schichtdicke des Gels zwischen 1 mm und der alten Dicke von 10 mm schrittweise um je 1 mm verändert. Bei einer Gelstärke von 5 mm war die beste Auftrennung zu beobachten. Anschließend wurde der Querschnitt zwischen 4 und 6 mm um jeweils 0.5 mm verändert. Für alle weiteren Versuche wurde dann die Schichtdicke von 4.5 mm gewählt, bei der die beste Auftrennung und Bandenschärfe erzielt worden waren. Bei den Versuchen, die geeignete Schichtdicke zu ermitteln, wurden Spannung, Stromstärke und Laufstrecke nicht verändert. Durch eine spätere Mitteilung von ROSE war zu erfahren, daß er jetzt eine Schichtdicke von 5 mm für geeignet hält. Bei dieser Geldicke kann gleich die Unterseite des abgelösten Gels gefärbt werden; das unvorteilhafte Schneiden des Gels wird dadurch überflüssig.

b) Temperierung des Gels

Die Qualität der Auftrennung erwies sich als stark abhängig von der Lauftemperatur. Mit Hilfe des Wasserdurchlaufs unter der Trennkammer konnte die Geltemperatur zwischen 5°C und 55°C verändert werden. Höhere Temperaturen führten zu Rissen im Gel, bei niedrigeren Temperaturen als 5°C war der Lauf ungleichmäßig. Veränderungen der Geltemperatur zwischen 5°C und 55°C in steigenden Stufen von 10°C erbrachten bei 35°C das beste Ergebnis. Weitere Untersuchungen zeigten, daß die beste Geltemperatur während des Laufes bei 37°C liegt, was mittels des Wasserdurchflusses mit 35°C erreicht wird. Die Abhängigkeit des Wärmegrades des Durchflusses von der Raumtemperatur während des Laufes ist zu berücksichtigen.

c) Vorbehandlung der Seren

Durch eine persönliche Mitteilung von ROSE war zu erfahren, daß die Inkubation der Seren bei 37°C während 3 Tagen zu einer besseren Darstellung der Pt-Banden führen sollte als die früher empfohlene Aufbereitung im Kühlschrank. Zur Vermeidung bakterieller Einflüsse wurde jedem Serum Merthiolat 0.0001% zugesetzt.

Um unsererseits die geeignetste Vorbehandlung zu ermitteln, wurden je 10 Seren bei verschiedenen Temperaturen inkubiert. Ferner wurde die Wirkung von Zusätzen geprüft, die die Konversion des β_{1C} - zu β_{1A} -Globulin beeinflussen sollen (LUNDH und LAURELL, HUMMEL und MITTELSTÄDT, MÜLLER-EBERHARD und NILSSON, BITTER-SUERMAN).

Die 12 untersuchenden Seren wurden in sechs Portionen aufgeteilt, für jeden Untersuchungsansatz eine (s. Tab. II). Die Analysen im Xanthochrom, bei 37°C und bei 42°C wurde zu den angegebenen Zeit jeweils eine Probe entnommen und eingelesen. Die jeweils identischen, aber unterschiedlich vorbereiteten Seren wurden nach Abschluß der Versuche in je 1 Liter miteinander verglichen (s. Tab. II). Durch den direkten Vergleich mit einem Überogramm wurden andere Einflüsse auf die Schmelzkurve als die der verschiedenen Inkubation vermieden. Der Vergleich mit der Kryptoxin-Transformation wurde in einem anderen Teil vorgenommen.

Die Inkubationen mit Hydratin und Kryptoxin folgten nach Transformation der 37°C für eine halbe Stunde. Bei 50°C wurden die Seren für 12 Stunden inkubiert. Die anderen Versuchsbedingungen sind in Tab. II angegeben.

Die Inkubation mit Kryptoxin, diejenige über 3 Tage bei 37°C und die Inkubation über 12 und 24 Stunden bei 42°C lieferten gute Ergebnisse und sind deshalb für die β_{22} -Konversion geeignet.

Während Inkubation der 37°C war bei nach 1 Tag Inkubation entnommenen Seren eine starke Nachfraktion zu sehen. Bei längerer Inkubation derselben Seren bildete sich diese Nachfraktion nicht. Stattdessen entstand eine vorher nicht zu beobachtende Fraktion.

Bei den bei 42°C inkubierten Seren traten bei der Inkubation Veränderungen auf: es bildete sich erst eine Pt-C-Bande, dann erschien eine Pt-E-Bande. Zunehmend verschwand in länger inkubierten Seren das Pt-C, das Pt-E wurde stärker, und

<u>Inkubationsart</u>	<u>Qualität der Pt-Banden</u>
Kobratoxin	gut, ohne Nebenfraktionen
Hydrazin	weniger gut, starke Nachfraktion
Kühlschrank (4°C)	
1.Tag	keine Banden
2.Tag	Andeutung von Banden
3.Tag	schwache Banden
4.Tag	ausreichende Banden, Nachfraktion
5.Tag	befriedigende Banden, Nachfraktion
37°Celsius	
1.Tag	einige schwache Banden
2.Tag	schwache, ausreichende Banden
3.Tag	gute Banden
42°Celsius	
3 h	Übergangsformen, schwache Banden
6 h	Übergangsformen, stärkere Banden
9 h	fast stabile Form
12 h	stabil, gute Banden
24 h	stabil, gute Banden
36 h	breitere, noch gute Banden
48 h	breitere, verschwommene Banden
50°Celsius	verschwommene Banden

Tab. II. Vergleich verschieden inkubierter identischer Seren

zusätzlich entwickelte sich eine Vorfraktion vor der Pt-Bande. Bei mehr als 24 h Inkubation zeigte sich eine zunehmende Verbreiterung und Unschärfe der Pt-Banden. Bei den Transferrinen zeigte sich eine Abnahme der Intensität der C-Bande und eine Zunahme der Minorfraktion D.

Es bleibt zu klären, ob dieses Phänomen durch schneller konvertierende Seren oder schon in der Zwischenphase bis zur Inkubation teilkonvertierte Seren hervorgerufen wird.

d) Veränderung der verimpften Serummenge

Während der Versuche war zu beobachten, daß die Schärfe der Banden auch von der Menge des verimpften Serums abhängig war, diese wurde deshalb in einer Versuchsreihe verändert. In einen Impfschlitz wurden eingebracht: Impfpapiere verschiedener Dicke, verschiedener Größe und mehrere Impfpapiere.

Das Einbringen zweier oder mehrerer Impfpapiere erwies sich als nicht vorteilhaft. Auch die Verwendung dickerer oder dünnerer Impfpapiere brachte keine Verbesserung der Darstellung der Posttransferrine. Die schärfsten Banden wurden mit einem Impfpapier Whatman 3 MM in der Größe 10 x 5 mm erreicht. Durch Auswiegen größerer und verschiedener Mengen des so zugeschnittenen Papierses (je 50, 40, 30, 20, 2 x 10 Stück) in trockenem Zustand wurde das Durchschnittsgewicht mit 10.03 mg bei einer Abweichung von ± 0.2 mg ermittelt. Die Papiere wurden dann mit Serum getränkt und erneut gewogen. Die Differenz ergab die verimpfte Serummenge, im Schnitt 24.5 mg bei einer Abweichung von ± 4 mg.

e) Die endgültigen Laufbedingungen

Das 9.7% Gel aus Toronto-Stärke wird 4.5 mm dick verwendet und bei 37°C temperiert gehalten. Bei einer Spannung von 14 V/cm beträgt die Stromstärke 70 mA. Während des Laufes sinkt die Stromstärke um etwa 20 mA. In 4 Stunden läuft die Pufferfront 17 cm. Die Front wird durch Anfärbung des Albumins des Kontrollserums Pt-B mit Bromphenolblau sichtbar gemacht. Ohne

diese Anfärbung ist die Pufferfront durch eine leichte Einziehung des Gels an der Stelle zu erkennen.

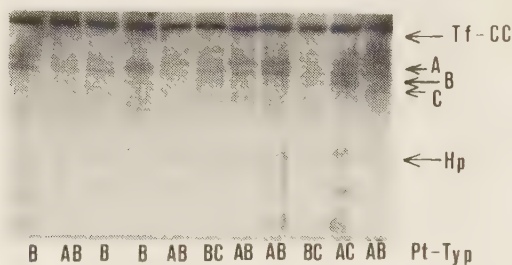


Abb. 5: Pherogramm mit Pt-Typen

f) Andere bekannte Laufbedingungen für Pt

Angaben über die Bestimmung der Posttransferrine konnten noch 2 anderen Quellen entnommen werden: HUMMEL und MITTELSTÄDT, BENDER und FORSTER. Diese Autoren arbeiten ebenfalls abweichend von der Originalmethode. HUMMEL und MITTELSTÄDT gießen in die ausgestanzten Gelschlitze zur Beimpfung ein Serum-Agar-Gemisch, um so eine gleichmäßigere Pufferströmung zu erzielen (Plombentechnik). Der gleiche günstige Effekt wird bei der eigenen Modifikation durch das Schneiden der Impfschlitze mit einem Skalpell, das Einbringen dünnen Impfpapieres und Verwendung eines Gels mit hoher Feuchtigkeit ermöglicht. FORSTER verwendet ein 8 mm dickes 11.5% Stärkegel. Die Stromstärke beträgt 110 mA bei einer Spannung von 14 V/cm. BENDER verwendet ein 13% Stärkegel der Maße 32 x 12 x 0.6 cm.

Die Spannung beträgt 9.5 V/cm, die Stromstärke 28 mA. Der Lauf wird vertikal angelegt. Die Laufzeit beträgt bei FORSTER 6 und bei BENDER 4-5 Stunden. Die von ARVILOMMI verwandte Methodik ist nicht veröffentlicht.

C. Ergebnis von C'3- und Pt-Bestimmungen
an identischen Seren

1. Material und Technik

Untersucht wurden 131 Blutproben aus der Blutbank Marburg. Die Darstellung des C'3-Polymorphismus geschah mit Hilfe der von ALPER und PROPP beschriebenen Methode, modifiziert nach TEISBERG. Die Untersuchungen wurden an frischen Seren oder an bis zu 4 Wochen tiefgekühlten Seren vorgenommen. An 56 Seren wurde das Merkmal C'3 von 2 unabhängigen Untersuchern bestimmt (Untersucher 1 und 2 in Tab. III). Die restlichen 75 Proben wurden nur einfach untersucht (nähere Einzelheiten sind bei HANDSTEIN angegeben).

Die Posttransferrin-Typen wurden nach 3tägiger Inkubation bei 37°C mit der eigenen Modifikation der Methode von ROSE und GESERICK bestimmt. 115 Seren wurden von 2 Untersuchern bearbeitet (Untersucher 3 und 4 in Tab. III). Die restlichen 16 Proben wurden nur von einem Untersucher bestimmt. Jede der Darstellungen eines Merkmals wurde mehrfach wiederholt, um die Befunde so weit wie möglich zu sichern.

Die eigenen Ergebnisse sind in Tab. III umrandet.

2. Befunde

Legt man die Vermutung zugrunde, die auf der 1. Internationalen Arbeitstagung über den Polymorphismus der 3. Komponente des Humankomplements (Juni 1972 in Bonn) ausgesprochen wurde, daß

Pt-B	C'3-S (2)
Pt-A	C'3-F (1)
Pt-AB	C'3-SF (2-1)

entspreche, so wurde bei den 131 Seren 119mal eine Übereinstimmung des Polymorphismus C'3 und Pt festgestellt. Unter den übereinstimmenden Befunden waren 78 Pt-B/C'3-S, 38 Pt-AB/C'3-SF und 3 Pt-A/C'3-F. Bei 1 Serum war die fehlende Übereinstimmung auf Fehler in der C'3-Bestimmung zurückzuführen. Bei der Auswertung der 11 nicht übereinstimmenden Seren ergibt sich das folgende Schema:

Serum Nr.	C'3-Typ beim		Pt-Typ beim		Bande	
	1.	2.	3.	4.	fehlend	überzählig
8	F	F	AB	A	-	B
20	SF	SF	B	B	A oder	F
18	SF	SF	AB	B	A	-
63	-	SF	AB	B	A	-
104	-	SF	AB	AC	B	C
17	SF	SF	AB	C	AB	C
64	-	S	B	AB	-	A
122	-	S	B	AB	-	A
97	-	S	B	AB	-	A
121	-	S	C	B	B	C
16	S	S	BC	B	-	C

Tab. III. Unstimmigkeiten im Vergleich zwischen C'3 und Pt-Bestimmung bei 12 Seren.

3. Diskussion der Fehlerquellen

Da die Seren mehrfach untersucht wurden, wobei die Reproduzierbarkeit der Befunde festgestellt wurde, kann die fehlende Übereinstimmung der 11 Befunde nicht durch Mängel der Bestimmungsmethode erklärt werden.

Leider war es nicht möglich, die fraglichen 12 Proben zur Nachuntersuchung noch einmal von der Blutbank zu erhalten. Deshalb konnte die Konstanz der Befunde bei verschiedenen Entnahmen in diesem Fall nicht nachgeprüft werden. Auffällig ist, daß gerade diese zu Abweichungen führenden Seren von den Untersuchern bei besonders vielen Läufen getestet wurden. Es handelt sich fast ausschließlich um schwer bestimmbare Proben. In ähnlich gelagerten früheren Fällen führte die Untersuchung einer neuen Probe häufig zu übereinstimmenden Resultaten.

Als Ursache der Unstimmigkeiten kann vermutet werden, daß sie mit der Konvertierung des β_{1C} zu β_{1A} zusammenhängen. Wie schon oben bei den Befunden der verschiedenen Inkubationstemperaturen und -zeiten ausgeführt, bilden sich Intermediärprodukte, die zu Fehldiagnosen führen können. Gerade bei den Proben 20, 18, 63, 104, 17, 121, 16 und 8 (s. Tab. III) liegt diese Vermutung nahe. Bei den oben beschriebenen Versuchen war zuerst immer die Entstehung der späteren Nachfraktion zu beobachten. Eine noch nicht vollständig abgelaufene Konversion könnte somit die Erscheinung erklären: die späteren Minorfraktionen wurden fälschlich für die Hauptbanden gehalten. Gerade bei der Bildung des Pt-B über eine C-Bande war diese Erscheinung besonders gut zu beobachten gewesen; ähnlich tritt sie

hier bei den Seren 104, 17, 121 und 16 in Erscheinung. Aber auch bei Probe Nr. 8 ist diese Erklärung sehr wahrscheinlich, denn gerade die Pt-A und C'3-F-Typen lassen sich sonst besonders gut erkennen.

Die abweichende Bestimmung der Seren Nr. 64, 122 und 97 ist wohl durch das Vorliegen einer starken Vorfraktion nach der Konversion zu erklären. Das Auftreten der Vorfraktion in Abhängigkeit von der Konversion ist ebenfalls oben schon beschrieben.

Leider ist nicht bekannt, ob und wie weit im Verlauf der Konversion auch die C'3-Typen verändert werden können und dadurch Fehlbestimmungen auftreten. AZEN und SMITHIES (1969) berichten nur über ein Verschwinden der Banden im Post- α_2 -Makroglobulinbereich bei einer Alterung der Seren. KÜHNEL will an bis 6 Tage, TEISBERG sogar an bis 15 Tage bei 4°C gelagerten Seren noch eine C'3-Bestimmung machen können. Nach den Befunden von LAURELL und LUNDH ist zu diesem Zeitpunkt nicht-konvertiertes β_{1C} nicht mehr vorhanden, und die Pt-Bestimmung ist zu diesem Zeitpunkt üblich. Durch die Versuche von AZEN und SMITHIES ist zwar bekannt, daß β_{1C} und β_{1A} gleichzeitig bestimmt werden können. Fraglich erscheint jedoch, ob der Zeitraum, in dem beide Produkte nebeneinander erfaßbar sind, tatsächlich so groß ist. Nach den Erfahrungen von ROSE läßt sich Pt sicher bereits nach 3-4 Tagen nachweisen, wenngleich BENDER seine Seren vor der Pt-Bestimmung 12 Tage bei 4°C lagert. In den eigenen Versuchen zeigten sich am 4. Tag bei im Kühlschrank gelagerten Seren zur Pt-Bestimmung ausreichende Banden. LUNDH und LAURELL geben an, bei Seren, die nur 1 Tag

bei 37°C inkubiert waren, bereits eine stärkere β_{1A} - als β_{1C} -Fraktion festgestellt zu haben. Nach 4 Tagen war bei diesen Bedingungen kein β_{1C} mehr nachweisbar. Dagegen führen MÜLLER-EBERHARD und NILSSON aus, nach knapp 4 Tagen sei noch 45% des β_{1C} bei einer Inkubation bei 37°C nachzuweisen.

Diese verschiedenen Angaben lassen sich wahrscheinlich durch eine verschieden empfindliche Methodik erklären. Denkbar ist, daß bei einer empfindlicheren Methodik geringere Mengen an β_{1C} oder β_{1A} zur Bestimmung ausreichen. Der C'3-Untersucher mit empfindlicherer Methodik kann bei schon weiter fortgeschrittener Konversion und deshalb geringerem β_{1C} -Gehalt noch seine Bestimmung vornehmen, während der Pt-Untersucher bei noch geringem β_{1A} -Gehalt schon Bestimmungen machen kann. Dafür spricht auch, daß TEISBERG homozygote Seren, bei denen das entsprechende C'3-Merkmal ja in doppelter Dosis vorliegt, bei Alterungsversuchen länger bestimmen konnte als die heterozygoten. Es stellt sich jedoch die Frage, inwieweit überhaupt Bestimmungen im Grenzbereich der Konversion sinnvoll sind, im Hinblick auf das Auftreten nicht mehr oder noch nicht stabiler Übergangsformen.

Wichtiger ist deshalb die Frage nach der Art der Konversion und der elektrophoretischen Darstellung ihrer Produkte. Verschiedene Autoren: WIEME und DEMEULENAERE (1967), ALPER und PROPP (1968), TEISBERG (1971) beschreiben erst ein Unscharfwerden, dann ein Verschwinden der C'3-Banden bei Alterung der Seren. Durch diese Befunde wird ein denkbare früheres oder verschieden schnelles Schwächerwerden der Banden bei einem Heterozygoten nicht ausgeschlossen, was zu Fehlbeurtei-

lungen führen könnte. Gerade auch das Auftreten eines hypomorphen Allels f (ALPER und ROSEN 1971) wird dann sicher nicht erkannt werden. Auch bei der künstlich beschleunigten oder induzierten Konversion tauchen diese Schwierigkeiten auf. So führte z.B. die Inkubation im Kühlschrank oder die bei 42°C zu Nachfraktionen, die auch bei der Hydrazintransformation des β_{1C} auftauchten.

Auch die Konversion des β_{1C} durch Inulin ohne Säuerung zeigte eine 2. Bande, die nach Angaben von HUMMEL und MITTELSTÄDT durch Arbeiten in saurem pH-Bereich vermieden werden kann. Erstaunlich ist, daß bei der Transformation des β_{1C} zu β_{1A} durch Kobratoxin bei schon ankonvertierten Seren nach HILGERMANN die Entstehung störender Vor- und Nachfraktionen vermieden werden kann. Es darf vermutet werden, daß es sich bei diesen Vor- oder Nachfraktionen ebenfalls um Konversionsprodukte des β_{1C} handelt. ANANTHAKRISHNAN führte bereits aus, daß diese zusätzlichen Konversionsprodukte im Bereich von C'3 und Pt stören können. Die Art der Konversion ist nach den Befunden von HUMMEL und MITTELSTÄDT, LAURELL und LUNDH, HILGERMANN offensichtlich beeinflussbar; möglicherweise handelt es sich auch um den Grad der Konversion, der beeinflußt wird.

Wie problematisch die Konversion des β_{1C} ist, wurde schon von WEST et al. und auch von ROELCKE beschrieben. WEST et al. stellten 4 Spaltprodukte des β_{1C} fest, und ROELCKE zeigte, daß sich diese zum Teil ineinander überführen lassen. So kann die α_2 -Position durch Proteasen innerhalb von 1-3 Tagen über Zwischenformen in ein Protein mit β_{1A} -Aspekt - das entspricht Pt - transformiert werden. LAURELL und LUNDH fanden bei identischen,

frischen Seren zum Teil wie erwartet nur β_{1C} , zum Teil aber auch β_{1A} . Für diese Beobachtung gaben die Autoren keine Erklärung. Bei Inkubationsuntersuchungen fanden sie nach 1 Tag bei 37°C bereits doppelt soviel β_{1A} wie β_{1C} vor. Nach 4 Tagen unter gleichen Bedingungen war kein β_{1C} mehr nachweisbar. 70% des konvertierten β_{1C} fanden sich im β_{1A} -Bereich, im α_2 - und inter- β -Bereich waren 30% nachweisbar. Untersuchungen mit Hydrazinzusatz und folgender Inkubation bei 37°C zeigten ein abweichendes Ergebnis. Es ließ sich zuerst eine starke Fraktion im γ_1 -Bereich nachweisen, nach 1 Tag war diese verschwunden, es zeigten sich Fraktionen im Bereich β_{1A} , β_{1C} , inter- β und α_2 ; nach 4 Tagen nur noch im Bereich β_{1A} . Auch der Zusatz von EDTA, Immunpräzipitat und Zymosan vermochte die Konversion zu verändern.

Nach diesen Ausführungen läßt sich zusammenfassend sagen, daß es mehrere Möglichkeiten der Konversion des β_{1C} -Globulins geben muß, und daß dabei neben β_{1A} noch andere, unterschiedliche Spaltprodukte entstehen, die die Bestimmung der Posttransferrine zum Teil erschweren. Eine sichere Darstellung der Pt-Typen ist deshalb nur von standardisierten Konversionsbedingungen zu erwarten.

Die fehlenden Übereinstimmungen der Polymorphismen C'3 und Pt in der oben beschriebenen Untersuchung lassen sich auf Unstimmigkeiten bei der Konversion zurückführen und sind nicht durch eine Verschiedenheit der Polymorphismen bedingt.

Damit ist bewiesen, daß der Polymorphismus der Systeme C'3 und Pt identisch ist und nicht nebeneinander, sondern alternativ untersucht werden sollte.

D. Prüfung unbekannter seltener C'3-Typen
auf ihr Pt-Merkmal

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Bonn wurden uns 7 verschiedene Seren zur Untersuchung zur Verfügung gestellt. Darunter befanden sich einige seltenere C'3-Typen. Es sollte nun festgestellt werden, inwieweit die eigene Methodik geeignet war, diese seltenen Typen festzustellen und zu identifizieren.

Die Seren wurden mit der Briefpost versandt und gelangten am Tag nach der Einlieferung ins Marburger Institut. Die Untersuchungen des C'3-Polymorphismus erwies sich als nicht mehr möglich, da die Konversion des β_{1C} -Globulins zu weit fortgeschritten war. Zur Darstellung des Pt-Polymorphismus wurden die Seren 3 Tage bei 37°C inkubiert und dann mit gewohnter Methode dargestellt. Zur Kontrolle wurden bekannte Pt-A- und Pt-B-Typen mitverimpft. Wegen der geringen Serummenge war es nicht möglich, die Seren mehr als 2 Läufen durch je zwei Untersucher zu unterwerfen. Bei unseren 2 Läufen ergab sich das folgende Pherogramm (Schema):

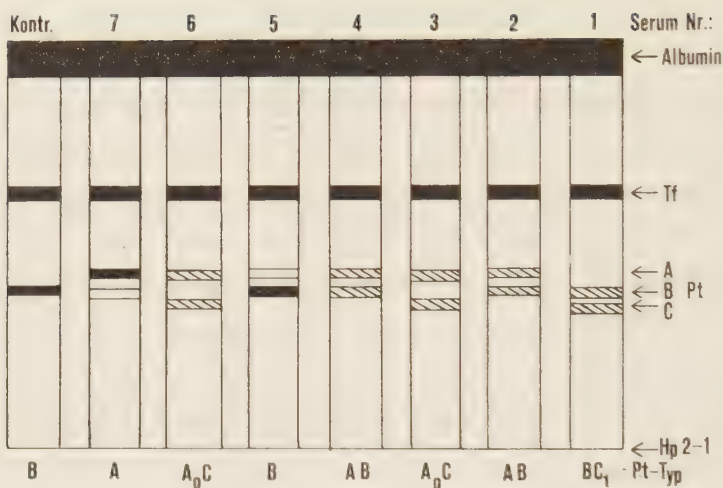


Abb. 6: Schema eines Pherogrammes mit seltenen Pt-Typen aus Bonn

Unter den 7 zu untersuchenden Seren stellten sich als Sondertypen 2 Pt-AC und ein Pt-BC dar. Die A-Banden der beiden AC wiesen Positionsdifferenzen zu unseren Kontrollseren des Pt-A-Typs von 0.3 und 0.4 mm auf. Das C des Pt-BC hatte eine Positionsdifferenz von 0.7 mm. Alle Positionsdifferenzen waren Verlangsamungen. ROSE stellte 1969 bei Untersuchungen der bulgarischen Bevölkerung mehrere A-Varianten und ebenso C-Varianten fest. Da uns diese Vergleichsseren nicht zur Verfügung standen, konnte nur aus den von ROSE beschriebenen jeweiligen Positionsdifferenzen geschlossen werden, daß die beiden A-Banden der Bonner Seren nach der Nomenklatur von ROSE A₀-Banden sind. Die festgestellte C-Bande des Pt-BC entspricht einer C₁-Variante. So konnten als seltene Typen bestimmt werden zwei A₀C und ein BC₁.

E. Untersuchung der Darstellbarkeit
des Merkmales Pt an Postversandbluten

1. Material und Technik

Blutproben, die nicht direkt in den Instituten entnommen werden, werden normalerweise mit der Briefpost verschickt. Bei einem Versand durch Briefpost ist eine Zustellung am Tage nach der Aufgabe sehr wahrscheinlich. Spätestens am 4. Tag nach der Einlieferung der Sendung bei der Post ist die Probe sicher zugestellt. Um einen noch größeren Zeitraum zur Sicherheit mit einzubeziehen, wurde die Untersuchungszeit auf 6 Tage ausgedehnt.

Zur Untersuchung kamen 10 frisch entnommene Proben der Blutbank Marburg. Sie wurden, um dem Postversand ähnliche Zustände zu schaffen, bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Für jeden Untersuchungszeitraum wurde ein Röhrchen mit Vollblut eingesetzt, um die Bedingungen dem normalen Postversand so weit wie möglich anzugleichen. Am 2. Tag nach der Blutentnahme wurde die erste Gruppe von 10 Röhrchen zentrifugiert und dann das Serum für 3 Tage bei 37°C mit Merthiolatzusatz inkubiert. Das entspricht der Ankunft der Proben am Tag nach der Entnahme. Am 3., 4. und 6. Tag wurde auf entsprechende Weise verfahren und je eine Gruppe von 10 Röhrchen inkubiert.

Die Proben der Seren vom 2. Tag wurden zusätzlich mit Kobratotoxin untersucht; es konnte jedoch keine bessere Darstellung erzielt werden.

2. Befunde

Die Darstellung der Seren, die nach nur 1 Tag bei Zimmer-temperatur untersucht wurden, wies schärfere Banden auf als die der späteren Tage. Aber auch bei der Untersuchung der Seren vom 6. Tag konnten noch befriedigend scharfe Pt-Banden erreicht werden. Bei Seren, die schon länger transportiert worden sind, ist eine kürzere Inkubationszeit zu erwägen, da die Seren mindestens schon teilweise konvertiert sind.

Die Untersuchung zeigte, daß Blutproben, die mit der Post versandt werden und in einem Zeitraum von 6 Tagen nach der Entnahme zur Untersuchung gelangen, auf das Merkmal Pt mit Erfolg untersucht werden können. Bei noch älteren Bluten muß mit Störungen durch freiwerdende Leukozyten-Enzyme gerechnet werden. Teilweise gelingt es nach HILGERMANN auch noch bei älteren Blutproben, die nach normaler Inkubation nicht mehr sicher bestimmbar sind, mit Kobratoxin-Transformation noch ausreichende Ergebnisse zu erzielen. Es ist denkbar, daß bei der nur halbstündigen Inkubation mit Kobratoxin die Leukozyten weniger geschädigt werden, oder daß deren freiwerdende Enzyme in dieser kurzen Zeit die Konversion weniger beeinflussen können als bei einer dreitägigen Inkubation bei 37°C.

F. Bestimmung der Genfrequenzen für das Merkmal Pt
im Raume Marburg

Im Institut für Rechtsmedizin Marburg wurden seit Juni 1972 400 Seren auf das Merkmal Pt untersucht. Der überwiegende Teil waren Blutproben der Blutbank Marburg. Von HILGERMANN wurden davon 241 Seren bestimmt, die eigene Untersuchung umfaßte 159 Proben. Die Typen verteilten sich:

Pt	A	18 (4.5 %)	Daraus lassen sich die Genfrequenzen errechnen:	
	AB	122 (30.5 %)		
	B	258 (64.25%)	Pt ^A	0.1975
	BC	1 (0.25%)	Pt ^B	0.7963
	C	1 (0.25%)	Pt ^C	0.0038

Tab. V.: Frequenzverteilung der Posttransferrintypen im Raume Marburg

Gegenübergestellt sei die Zusammenfassung der bisher veröffentlichten Genfrequenzen für Posttransferrine und für C'3-Typen. Die C'3-Befunde wurden nur für weiße Bevölkerungsgruppen angegeben, da vergleichbare Posttransferrin-Untersuchungen für andere Populationen noch fehlen (Tab. VI und Tab. VII).

Auffallend ist die Abweichung der Genfrequenz in Nordeuropa. So hat unter Lappen das in Mitteleuropa schon häufige Allel S eine Frequenz von 0.973 nach BRÖNNESTAM und 0.9369 nach TEISBERG (1971e). Auch unter der Bevölkerung von Norwegen (nach BERG), Finnland (ARVILOMMI) und Dänemark (DISSING) tritt,

Name des Autors	Untersuchungsland	Jahr	n	Frequenz für Pt		
				B	A	C
ARVILOMMI	Finnland	1972	1034	0.8298	0.1702	-
BENDER et al.	Deutschland	1972	165	0.81	0.18	0.01
GESERICK und ROSE	Deutschland	1970	522	0.7570	0.21	0.033
	UdSSR/Grusinien	1971	232	0.7628	0.2275	0.0097
HUMMEL und MITTELSTÄDT	Deutschland	1972	590	0.7528	0.2438	0.0035
ROSE und GESERICK	Bulgarien	1971	407	0.684	0.202	0.112
HILGERMANN und eigene Befunde	Deutschland	1973	400	0.7963	0.1975	0.0038

Tab. VI.: Frequenzverteilung der Posttransferrintypen

Name des Autors	Untersuchungsland	Jahr	n	Frequenz für C'3			
				S	A	S	O.4
ALPER und PROPP	USA	1969	349	0.77	0.22	0.003	
AZEN und SMITHIES	USA	1969	123	0.77	0.21	-	
BRÖNNESTAM	Nordschweden	1971	148	0.770	0.230	-	
	Lappland	1971	213	0.973	0.027	-	
BERG et al.	Norwegen	1970	136	0.8419	0.1397	0.0147	
DISSING und SØRENSEN	Dänemark	1971	406	0.82	0.18	0.001	
GOEDDE et al.	Deutschland	1970	312	0.79	0.207	0.0016	
	Spanien	1970	170	0.776	0.218	0.003	
HIRTH et al.	Deutschland	1970	312	0.790	0.207	0.0016	
KÜHN	Deutschland	1972	714	0.762	0.232	0.0035	
TEISBERG	Norwegen	1970	400	0.80	0.19	0.006	
	Norwegen	1971	2454	0.7865	0.2082	0.0018	
	Lappland	1971	198	0.9369	0.0631	-	

Tab. VII.: Frequenzverteilung für C'3

widersprechend TEISBERG 1971d, das Allel S häufiger auf als bei anderen Bevölkerungsgruppen. Starken Schwankungen unterliegt auch das Allel F in den einzelnen Populationen. Hervorzuheben ist noch die größere Häufigkeit des Merkmales Pt-C in der bulgarischen Bevölkerung (ROSE 1971).

Die in Marburg aufgestellten Genfrequenzen decken sich mit denen, die von anderen deutschen Untersuchern gefunden wurden.

G. Abschließende Betrachtung über das Merkmal Pt

Die Eignung des Pt-Polymorphismus im Vergleich zum C'3-System ist im Augenblick noch nicht abschließend geklärt. Unter der Annahme, mit beiden Systemen den genetisch gleichen Polymorphismus zu erfassen, scheint jedoch die Bestimmung beider Systeme überflüssig.

Die Darstellung des C'3 geschieht ohne die Fehlerquelle, die die Konversion für Pt darstellt, ist aber durch die Konversion im Zeitraum der Bestimmungsmöglichkeit begrenzt. Ferner scheint die Methode durch die Hochspannungselektrophorese nicht nur aufwendiger (obwohl sie ein höheres Auflösungsvermögen hat), sondern auch teurer und deshalb für den Routinebetrieb weniger geeignet; sie benötigt jedoch geringere Serum-mengen.

Die Bestimmung des Pt-Polymorphismus ist von der vollständigen Konversion des β_{1C} zu β_{1A} abhängig. Hier dürfte die Hauptfehlerquelle der Bestimmung liegen, da die Haptoglobine Überlagerungen vermieden werden können und ein Tf-D₁, das ebenfalls Pt überlagert, sehr selten vorkommt. Mit der Transformation des β_{1C} zu β_{1A} durch Kobratoxin dürften aber die Fehlermöglichkeiten in Zusammenhang mit der Konversion weitgehend beseitigt sein.

Mit der Methode nach ROSE und GESERICK sind auf jedem Pherogramm zusätzlich ohne Mehraufwand die Haptoglobine und Transferrine bestimmbar. Obwohl die Bestimmung der Transferrine wegen der geringen Ausschlußquote sonst kaum lohnt, kann durch

sie doch gelegentlich ein wertvoller Hinweis gewonnen werden.

Ferner ist die Darstellung der Posttransferrine auf dem Pherogramm durch schmalere Banden besser als die Banden bei der C'₃-Bestimmung. Gerade bei der Beurteilung von Sondertypen kann dies von Vorteil sein. Die Zahl der festgestellten Varianten beträgt jetzt schon 16, wie auf der 1. Internationalen Arbeitstagung über den Polymorphismus der 3. Komponente des Humankomplements bekannt wurde.

Diese Sondertypen mit Vergleichsseren zu bestimmen, ist wegen des Aufwandes, der mit einer Bereithaltung dieser Kontrollseren verbunden ist, fast unmöglich. An eine Festlegung der Sondertypen durch Werte, vergleichbar den R_f-Werten in der Chromatographie, ist schon gedacht worden, setzt aber einen fixierbaren Punkt an der Bande oder sehr schmale, farbintensivere Banden voraus.

Noch wenig beachtete Fehlermöglichkeiten für beide Systeme sind bei genetischen oder pathologischen Veränderungen der C'₃-Bildung zu erwarten. ALPER und PROPP (1969) entdeckten eine Sippe mit dem halben Serumgehalt von β_{10} . Alle Träger dieses Defektes erscheinen bei der C'₃-Bestimmung verschieden homozygot. ALPER erklärte dieses Phänomen durch den Verlust eines Genes.

2 Jahre später entdeckten ALPER und ROSEN (1971) eine Familie, in der das C'₃-Allel F nicht wie üblich in der heterozygoten Form etwa die Hälfte des C'₃-Gehaltes des Serums bildete, sondern um mehr als die Hälfte verringert war. ALPER nannte dieses hypomorphe Allel f.

Verschiedene andere Veröffentlichungen befassen sich mit

dem veränderten C'3-Spiegel bei inneren Krankheiten: bei Leberzirrhose kann der C'3-Gehalt nach AIGNER sowohl normal, vermehrt, als auch vermindert sein. Nach FOX ist er bei allen ausgedehnten Leberzellnekrosen stark vermindert, was durch die Synthese des C'3 in der Leber bedingt ist (ALPER et al. 1969a). Auch Krankheiten der Niere können den C'3-Spiegel des Serums beeinflussen. So fand FOVET-POINGT stark erniedrigte Werte bei post-infektiösen akuten Glomerulo-Nephritiden. Bei chronischer Pyelonephritis wurden dagegen von GUTZEIT oft erhöhte Spiegel gefunden. MEIER führt einen erniedrigten oder fluktuierenden Gehalt an C'3 immer auf pathologische Prozesse zurück, vor allem auf Veränderungen der lymphoiden Zellreihe.

Eine Veränderung der Konzentration von C'3 kann durch das vorgetäuschte Fehlen einer Bande durch zu große Schwäche zu Fehldiagnosen führen, was gerade bei dem Allel f leicht denkbar ist. Dies ist sowohl bei der direkten C'3-Bestimmung wie auch bei der Darstellung des Pt-Polymorphismus denkbar. Wegen dieser Fehlermöglichkeit sollte besonders auf die verschiedene Farbintensität (Dosis) der Banden geachtet werden. Bei einer Standardisierung der Beimpfung ist eine solche Beurteilung möglich. Dies läßt sich verhältnismäßig leicht durch die Verwendung gleichgroßer Filterpapiere erreichen, wie oben gezeigt wurde.

Insgesamt dürfte die Bestimmung des Merkmales Pt unter Beachtung der oben genannten Kriterien geeigneter sein als die Bestimmung des C'3-Polymorphismus.

H. AnhangDie Konstruktion der Trennkammer

Die Kammer wurde aus Plexidur gebaut, das sich als säurefestes und wenig kratzempfindliches Material am geeignetsten erwies. Die Teile wurden vorgeschnitten, die zu verklebenden Kanten mit einer Facette von 15° versehen und dann das Material getempert. Anschließend wurden die Klebekanten angeschliffen, mit Acrifix 95 grundiert und mit einem Polymerisationsklebstoff (Acrifix 90) verbunden. Die fertigen Teile wurden nochmals getempert. Für die Anschlüsse des Wasserdurchlaufes fanden zwei 3 cm lange Stücke eines Messingrohres $1/4''$ Verwendung, die in Löcher entsprechender Größe mit einem zwei-Komponentenkleber festgeklebt wurden.

Auf Grund von Durchströmungsversuchen mit Farbmitteln wurde die günstigste Anordnung der Wirbelplatten ermittelt. In die mit klarem Wasser gefüllte Kammer strömte Farbstoff zu, und dessen Verteilung in Abhängigkeit von der Anordnung der Wirbelplatten wurde beobachtet.

Um die Wärmeströmung zwischen Gel und Kühlflüssigkeit nicht zu behindern, wurde die Abdeckung der Wasserdurchlaufkammer mit einer isolierten Metallplatte erprobt. Die Isolierung wurde durch die bei der Elektrophorese herrschenden Spannung jedoch nach wenigen Läufen durchbrochen. Versuche mit anderem Isolierungsmaterial erwiesen sich als fruchtlos. Als geeignetes Material erwies sich eine dünne Glasplatte, die an den zu

klebenden Stellen angeschliffen wurde, um eine bessere Haftung zu erzielen. An den Längsseiten der Kammer wurden innen zusätzlich Anschlagleisten für die Glasplatte eingeklebt. Als Verbindung zwischen Glas und Plexidur erwies sich nach mehreren Versuchen ein dauerplastischer Klebstoff auf Silikonbasis als geeignet. Wegen des ungleichen Ausdehnungskoeffizienten von Glas und Plexidur wurde bei anderen Verbindungen der Deckel der Kammer abgesprengt.

Die Viskoseschwämme sollten, um gut abzudichten, in der Länge etwa 10 mm und in der Breite 5 mm stärker geschnitten werden, als es nach der Aussparung des Gelträgers erforderlich wäre. Um die Entnahme des Geles aus der Kammer zu erleichtern, ist zu empfehlen, auf den Deckel der Kammer eine Glasscheibe mit etwas geringeren Maßen als den Innenmaßen der Kammer zu legen und auf diese Scheibe erst das Gel zu gießen. Nach Entfernen der Viskoseschwämme und dem Losschneiden des Gels von der Kammerwand, läßt sich der gesamte Block mit der Scheibe zu einer Seite verschieben und von unten durch die 10 mm breite Aussparung für das Brückenmaterial nach oben drücken.

Die Kammer wurde für den Betrieb von Doppel- oder Einküvetten konstruiert. Durch einfaches Auseinanderschieben der Kammer und Eintauchen der Viskoseschwämme in die benötigte Pufferküvette ist der jeweils gewünschte Betrieb zu ermöglichen.

Die Elektrodendrähte wurden an normalen Telephonbuchsen befestigt. Der Materialpreis der Kammer betrug im Eigenbau etwa 25,- DM; darin sind enthalten das Material der Kammer, die Glasscheibe, das Klebematerial, die Telephonbuchsen und die

Messingröhrchen. Die Elektrodendrähte, über DEGUSSA bezogen, kosteten praktisch nur den reinen Platinwert, pro Kammer sind noch einmal etwa 100,- DM zu rechnen. Die Arbeitszeit für den ersten Trennkammerbau betrug etwa 40 Stunden.

Die Kammer wurde ohne Kenntnis von GUSSMANNs 1 Jahr später veröffentlichter Arbeit konstruiert. Im Gegensatz zur Kammer von GUSSMANN ist die oben beschriebene nur für horizontale Läufe geeignet.

Material:

der Trennkammer	Plexidur	4 mm stark
der Oberseite (Deckel)	Glas	1 mm stark
des Ein- und Ausflusses	Messingrohr	1/4"

Klebstoff für:

die Trennkammer	Acrifix 90 und 95
das Glas	Silikonklebstoff

Schemazeichnung der Trennkammer

Die Trennkammer wurde im Maßstab 1:2 verkleinert dargestellt.

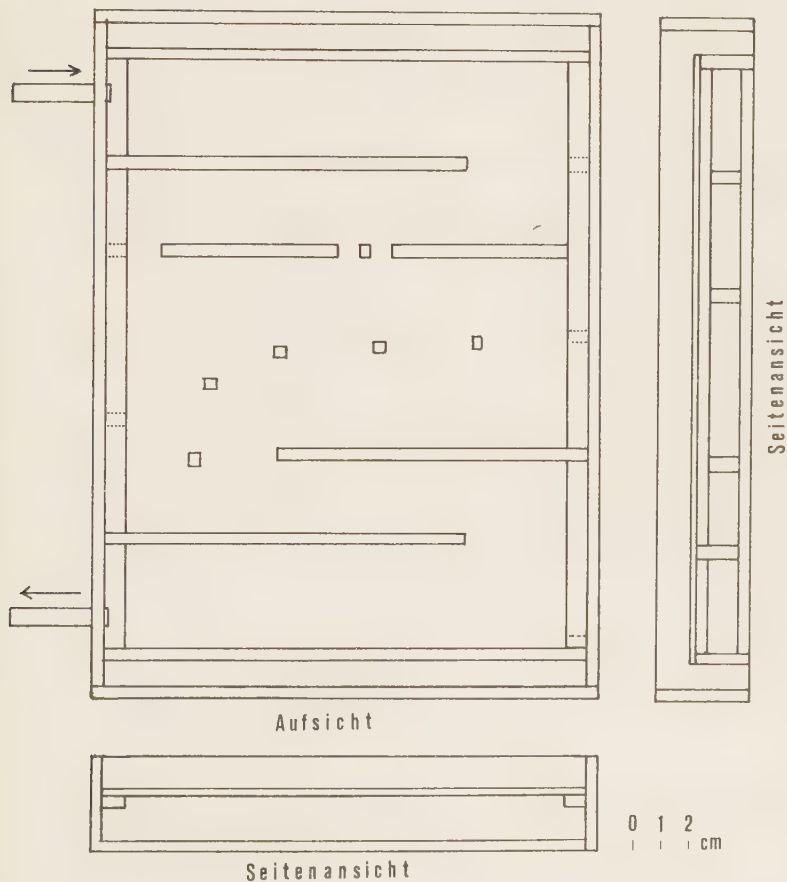


Abb. 7: Schemazeichnung der Trennkammer

I. Zusammenfassung

Mit der von ROSE und GESERICK entwickelten Methodik wurde der Polymorphismus der Posttransferrine (Pt) dargestellt. Die Methodik wurde verbessert und standardisiert. Sodann wurde an Hand eines Parallelversuchs der C'3- und Pt-Bestimmung an 131 Seren versucht, die Identität der beiden Polymorphismen nachzuweisen. Bei 119 Proben stimmte der Polymorphismus überein. Die bei den anderen 12 Seren auftretende Diskrepanz konnte durch methodische Mängel und unvollständige Konversion zufriedenstellend erklärt werden. Weiter wurde nachgewiesen, daß die Stärkegel-Elektrophorese geeignet ist, C'3-Sondertypen nach Konversion als Pt-Typen darzustellen. Das Merkmal Pt ist im übrigen an Postversandbluten bis zu einem Zeitraum von 6 Tagen sicher festzustellen. Abschließend wurde an einem Material von 400 Proben die Genfrequenz für Pt im Raume Marburg errechnet. Sie stimmt mit den Werten anderer deutscher Populationen überein. In einem Anhang wird die Konstruktion der selbstentwickelten Trennkammer erläutert.

K. Literatur

- AIGNER, A., F. GABL und E. KNAPP:
Serumspiegel der Immunglobuline, des Albumins und des $\beta_{1C/1A}$ -Globulins bei Patienten mit Lebererkrankung.
Wien. klin. Wschr. 83, 637, 1971
- ALPER, C., A. JOHNSON, A. BIRTCH and F. MOORE:
Human C'3: Evidence for the Liver as the Primary Site of Synthesis. Science 163, 286, 1969a
- ALPER, C. and R. PROPP:
Genetic Polymorphism of the Third Component of Human Complement (C'3). J. clin. Invest. 47, 2181, 1968
- ALPER, C., R. PROPP, M. KLEMPERER and F. ROSEN:
Inherited Deficiency of the Third Component of Human Complement (C'3). J. clin. Invest. 48, 553, 1969b
- ALPER, C. and F. ROSEN:
Studies of the in vivo Behaviour of Human C'3 in Normal Subjects and Patients. J. clin. Invest. 46, 2021, 1967
- ALPER, C. and F. ROSEN:
Studies of a Hypomorphic Variant of Human C3.
J. clin. Invest. 50, 324, 1971
- ANANTHAKRISHNAN, R.:
Synthesis, Ontogeny and Conversion Products of β_{1C} -Globulin (C 3). Vortrag anlässlich der 1. Intern. Arbeitstagg. über den Polymorphismus der 3. Komponente des Humankomplements, 1972 in Bonn (noch unveröff.)
- ARVILOMMI, H.:
Genetic Polymorphism of Serum C 3 in Finns. Vortrag anlässlich der 1. Intern. Arbeitstagg. über den Polymorphismus der 3. Komponente des Humankomplements, 1972 in Bonn (noch unveröff.)
- AZEN, E. and O. SMITHIES:
Genetic Polymorphism of C'3 (β_{1C} -Globulin) in Human Serum. Science 162, 905, 1968
- AZEN, E., O. SMITHIES and O. HILLER:
High-Voltage Starch-Gel Electrophoresis in the Study of Post-Albumin Proteins and C'3 (β_{1C} -Globulin) Polymorphism. Biochem. Genet. 3, 215, 1969
- BENDER, K., E. VOLKMANN, K. BURCKHARDT, B. FORSTER und H. JOACHIM:
Untersuchungen zur Darstellung des Pt-Polymorphismus.
3. Tagg. Ges. forens. Blutgruppenkunde Mainz 1971, 126

- BERG, K., G. NOER and A. HEIBERG:
Studies on the Genetic Polymorphism of the C'3 of Human Serum. Clin. Genet. 1, 177, 1970
- BITTER-SUERMANN, D.:
Aktivierung des Komplementsystems - ein Monopol des Immunkomplexes? Klin. Wschr. 50, 277, 1972
- BORDET, J.: Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défi-briné. Ann. Inst. Pasteur 12, 688, 1898
- BRÖNNESTAM, R.:
Genetic Polymorphism of the Complement Component C 3 in a Northern Swedish Population. Human Hered. 21, 263, 1971
- BRÖNNESTAM, R.:
Genetic Polymorphism of the Complement Component C 3 in Swedish Lapps. Human Hered. 21, 267, 1971
- BUNDSCHUH, G.:
Über ein vereinfachtes Verfahren zur qualitativen Haptoglobulin Bestimmung aus menschlichen und tierischen Seren. Dtsch. Ges.wesen. 15, 2103, 1960
- DISSING, J. and H. SØRENSEN:
Studies on C'3 Polymorphism in Denmark. Human. Hered. 21, 272, 1971
- EBERTUS, R.:
Serum Transferrin Allele beim Deutschen Schwarzbunt-rind. Fortpfl. Haustiere 4, 296, 1968; zit. nach ROSE und GESERICK, 1970
- EHRlich, P. und J. MORGENROTH:
Zur Theorie der Lysinwirkung. Berl. klin. Wschr. 36, 6, 1899
- FOVET-POINGT, O., C. CATTELAINE, J. HONGRE et G. FONTAINE:
Le complément sérique (β_1C) dans les néphropathies de l'enfant. Ann. Pédiat. 19, 235, 1972
- FOX, R., F. DUDLEY and S. SHERLOCK:
The Serum Concentration of the Third Component of Complement β_{1C}/β_{1A} in Liver Disease. GUT 12, 574, 1971
- GESERICK, G., H. MARTH, S. SCHNITZLER, S. GOGOCHIA, A. MIRVIS und H. ANNENKOW: Pt-Typenverteilung bei einem Bevölkerungsisolat im abchasischen Swanetien (Grusinien). Acta biol. med. germ. 26, 441, 1971a
- GESERICK, G. und M. ROSE:
Über die Unabhängigkeit des Pt-Polymorphismus von Hp. Acta biol. med. germ. 23, 541, 1969

- GESERICK, G. und M. ROSE:
Eine neue menschliche Serumgruppe: Pt. Darstellung,
Genetik und forensische Bedeutung. Kriminalistik und
forens. Wissenschaften 2, 113, 1970a
- GESERICK, G. und M. ROSE:
Versuche zum Nachweis von Tf und Pt in Spurenmaterial.
Kriminalistik und forens. Wissenschaften 5, 119, 1971b
- GESERICK, G., M. ROSE, J. BLASZCYK und R. IWANOW:
Familienstudien zur Darstellung der Genetik des Serum-
merkmals Pt. Z. Immun. Forsch. 140, 50, 1970b
- GESERICK, G., M. ROSE und S. SCHNITZLER:
Untersuchungen zur Identität des polymorphen Serumpro-
teins Pt. Z. Immun. Forsch. 140, 54, 1970c
- GIBLETT, E.: Recent Advances in Haptoglobin and Transferrin
Genetics. Bibl. Haemat. 1, 29, 1968
- GOEDDE, H., H. BENKMANN and L. HIRTH:
Genetic Polymorphism of C'3 (β_{1C} -Globulin) Component
of Complement in a German and a Spanish Population.
Humangenetik 10, 231, 1970
- GUSSMANN, S.:
Wassergekühltes Hochspannungsstärkegel-Elektrophorese-
gerät zur routinemäßigen Darstellung des C'3-(β_{1C} -
Globulin, Pt-) Polymorphismus. Ärztl. Lab. 18, 44, 1972
- GUTZEIT, D. und J. OEHME:
Serum-Komplement (Fraktion C 3) bei chronischer Pyelo-
nephritis im Kindesalter. Klin. Wschr. 50, 845, 1972
- HANDSTEIN, U.:
Dissertation Marburg, noch unveröff.
- HILGERMANN, R.:
Unveröff. Befunde
- HIRTH, L., H. BENKMANN und H. GOEDDE:
Genfrequenzen einiger neuerer Polymorphismen in Hambur-
ger Stichproben. 2. Tagg. Ges. forens. Blutgruppenkunde
Freiburg 1970, 77
- HUMMEL, K. und W. MITTELSTÄDT:
Erprobung verschiedener Methoden zur Vorbehandlung der
Seren: verbesserte elektrophoretische Darstellung der
Pt-Typen; Ergebnis einer Reihenuntersuchung aus dem
südwestdeutschen Raum. Vortrag anlässlich der 1. Intern.
Arbeitstagg. über den Polymorphismus der 3. Komponente
des Humankomplements, Bonn 1972, noch unveröff.
- KÜHNEL, P.: Ein Beitrag zum C'3-Polymorphismus. 3. Tagg. Ges.
forens. Blutgruppenkunde Mainz 1971, 131

- KÜHNEL, P. und W. SPIELMANN:
 Untersuchungen zum C'3-Polymorphismus (β_1C -Globulin);
 Genfrequenzen und Familienuntersuchungen an hessischen
 Blutspendern und an einer Bantupopulation.
 Humangenetik 15, 7, 1972
- LAURELL, C. und B. LUNDH:
 Electrophoretic Studies of the Conversion Products of
 Serum β_1C -Globulin. Immunology 12, 313, 1967
- LUNDH, B. and C. LAURELL:
 Charge and Size of the Conversion Products of Serum
 β_1C -Globulin. Immunology 13, 649, 1967
- MEIER, E. und P. GROB:
 Die Bestimmung von β_1C/A (Komplementfaktor 3) bei ma-
 lignen Lymphomen, Myelom und Morbus Waldenström.
 Dtsch. med. Wschr. 97, 967, 1972
- MÜLLER-EBERHARD, H. and U. NILSSON:
 Relation of AB_1 -Glycoprotein of Human Serum to the Com-
 plement System. J. Exp. Med. 111, 217, 1960
- POULIK, M.: Starch Gel Electrophoresis in a Discontinuous System
 of Buffers. Nature 180, 1477, 1957
- PROKOP, O. und G. UHLENBRUCK:
 Lehrbuch der menschlichen Blut und Serumgruppen.
 Leipzig (Ed. Leipzig) 1963, S. 593
- PROKOP, O., M. ROSE und G. GESERICK:
 Die Anwendung des Posttransferrinpolymorphismus (Pt)
 in der Vaterschaftsbegutachtung. Dtsch. Ges.wesen.
 25, 1910, 1970
- PROPP, R. and C. ALPER:
 C'3 Synthesis in the Human Fetus and Lack of Trans-
 placental Passage. Science 162, 672, 1968
- ROELCKE, D.:
 Die spontane In-vitro-Antigenitätssteigerung des huma-
 nen β_1C/A -Globulins. Blut 17, 41, 1968
- ROPARTZ, C., L. RIVAT, P. ROUSSEAU, P. DEBEAU et M. STEINBUCH:
 Un nouveau polymorphisme sérique humain défini par
 l'utilisation de globules rouges tannés et revêtus
 de bêta-1C. Proceed. 10th Congr. int. Soc. Blood
 Transf., Stockholm 1964, 383
- ROSE, M.: Pers. Mitteilung
- ROSE, M. und G. GESERICK:
 Ein neuer Serumproteinpolymorphismus: Pt. Erste Hin-
 weise für eine genetische Steuerung. Acta biol. med.
 germ. 23, 351, 1969

- ROSE, M. und G. GESERICK:
Methode der Pt-Typenbestimmung. Ärztl. Lab. 16, 211, 1970
- ROSE, M. und G. GESERICK:
Ein neues Serumgruppensystem beim Menschen - Darstellung und genetischer Hintergrund. Kriminalistik und forens. Wissenschaften 5, 113, 1971
- SMITHIES, O.:
Zone Electrophoresis in Starch Gels: Group Variations in the Serum Proteins of Normal Human Adults. Biochem. J. 61, 629, 1955
- SMITHIES, O.:
An Improved Procedure for Starchgel Electrophoresis: Further Variations in the Serum Proteins of Normal Individuals. Biochem. J. 71, 585, 1958
- TEISBERG, P.:
High Voltage Agarose Gel Electrophoresis in the Study of C 3 Polymorphism. Vox Sang. 19, 47, 1970a
- TEISBERG, P.:
New Variants in the C 3 System. Hum. Hered. 20, 631, 1970b
- TEISBERG, P.:
The Conversion Rate of Human C 3 under Different Storage Conditions. Vox Sang. 20, 230, 1971a
- TEISBERG, P.:
Another Variant in the C 3 System. Clin. Genet. 2, 298, 1971b
- TEISBERG, P.:
Genetics of the C 3 System. Hum. Hered. 21, 458, 1971c
- TEISBERG, P.:
The Distribution of C 3 Types in Norway. Hum. Hered. 21, 154, 1971d
- TEISBERG, P.:
C 3 Types of Norwegian Lapps. Hum. Hered. 21, 162, 1971e
- WASSERMANN, H., A. NEISSER und C. BRUCK:
Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis. Dtsch. med. Wschr. 32, 745, 1906
- WEST, C., N. DAVIS, J. FORRISTAL, J. HERBST und R. SPITZER:
Antigenic Determinants of Human β_{1C} -Globulins and β_{1G} -Globulins. J. Immunol. 96, 650, 1966

WIEME, R. and L. DEMEULENAERE:

Genetically Determined Electrophoretic Variant of the Human Complement Component C'3. Nature 214, 1042, 1967

WIEME, R. and J. SEGERS:

Genetic Polymorphism of the Complement Component C'3 in a Bantu Population. Nature 220, 176, 1968

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Schleyer für die Überlassung des Themas und für seine vielfältigen Anregungen während der Bearbeitung.

Frau Priv.-Doz. Dr. I. Oepen danke ich für die Betreuung während der Arbeit und für ihre ständige Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Am 17. Oktober 1946 wurde ich in Essen als Sohn des Industriekaufmanns Horst-Rolf Schneitler und seiner Ehefrau Ilse, geb. Reusse, geboren. Die Schule besuchte ich in Erlangen, Bielefeld, Stuttgart und Bremen. Dort legte ich am 15. November 1966 am Gymnasium an der Hermann-Böse-Straße die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich an der Technischen Hochschule München das Studium der Elektrotechnik. Im Sommersemester 1967 wechselte ich an die Universität München über und begann das Studium der Medizin. Nach 5 Semestern legte ich in München die ärztliche Vorprüfung ab. Während der klinischen Semester studierte ich an der Universität Marburg, wo ich im Herbst 1972 die ärztliche Prüfung bestand. Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent am Institut für Rechtsmedizin in Marburg. Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in München:

Autrumm, Bachmann, Bücher, Dane, Dannenberg, Dingler, Dziallas, Faessler, Frick, Huisgen, Kramer, Kranz, Rath, Wallraff, Wieberg;

in Marburg:

Beckmann, Berendes, Bommer, Buchholz, Dölle, Englhardt, Exner, Friederich, Graul, Jacob, Hamelmann, Hamm, Heuser, Hess, Hildebrandt, Hort, Hupe, Koransky, Linneweh, Mann, Milbradt, Martini, Pots, Reim, Rodeck, Rohen, Rosenthal, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Siegert, Straub, Uhlarik, Voß.

